4 月 April
2019，62(4)：453－460

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

http：//www.insect.org.cn
doi：10.16380/j.kcxb.2019.04.007

四种植物精油成分对枸杞棉蚜的生物活性

陈新华[1]，万　炜[2]，冯淑军[1]，许胜利[3]，杨建军[4]，段立清[2,*]

（1. 内蒙古农业大学农学院，呼和浩特 010019；2. 内蒙古农业大学林学院，呼和浩特 010019；
3. 鄂尔多斯市森林病虫害防治检疫站，内蒙古鄂尔多斯 017000；4. 杭锦旗森林病虫害防治检疫站，内蒙古杭锦旗 017400）

摘要：【目的】研究植物精油 4 种成分丁香酚(eugenol)、α-松油醇(α-terpineol)、肉桂油(cinnamon oil)和香茅油(citronella oil)对枸杞棉蚜 *Aphis gossypii* 的生物活性以及马来酸二乙酯和水杨酸乙酯对这些化合物对枸杞棉蚜毒力的影响，为无公害防治枸杞(*Lycium* spp.)害虫奠定科学基础。【方法】采用二项选择法测定上述 4 种精油成分(1%)对枸杞棉蚜无翅成蚜的驱避作用；玻璃管药膜法进行生物测定，评估这 4 种化合物及其与马来酸二乙酯或水杨酸乙酯的混合液对枸杞棉蚜成蚜的毒力；采用生物化学方法分析这些化合物处理后枸杞棉蚜成蚜乙酰胆碱酯酶(AChE)和三磷酸腺苷酶(ATPase)的离体活性。【结果】α-松油醇(1%)对枸杞棉蚜无翅成蚜的驱避作用明显，1, 2 和 3 h 的驱避率分别为 58.1%, 58.6% 和 55.7%；3 h 时测试的 4 种化合物对枸杞棉蚜成蚜的驱避率由大到小依次为 α-松油醇 > 香茅油 > 肉桂油 > 丁香酚。丁香酚对枸杞棉蚜成蚜的毒杀作用最强，处理 4 h 时的 LC_{50} 值为 0.48 mL/L，肉桂油、α-松油醇、香茅油对枸杞棉蚜成蚜的 LC_{50} 值分别为 1.23, 6.24 和 11.97 mL/L。对枸杞棉蚜成蚜的生物测定结果表明，马来酸二乙酯对香茅油、肉桂油、丁香酚和 α-松油醇的增效比分别为 2.75, 2.86, 1.78 和 1.56；水杨酸乙酯对香茅油、肉桂油、丁香酚和 α-松油醇的增效比分别为 3.41, 2.67, 2.00 和 1.89。毒力比结果表明，所测定的 4 种化合物对枸杞棉蚜的毒力相差 49.9 倍，丁香酚与马来酸二乙酯或水杨酸乙酯的混合液对枸杞棉蚜的触杀毒力最高。4 种精油成分对枸杞棉蚜成蚜 AChE 和 ATPase 活性有不同的作用，丁香酚对 AChE 活性的抑制作用最强，但对 ATPase 活性表现为低浓度促进，高浓度抑制。【结论】α-松油醇对枸杞棉蚜驱避作用最好；丁香酚、α-松油醇、肉桂油和香茅油这 4 种精油成分对枸杞棉蚜的毒力相差很大；丁香酚与马来酸二乙酯或水杨酸乙酯混合后对枸杞棉蚜的毒力提高，具有进一步开发应用的潜力；所测精油成分对枸杞棉蚜离体 AChE 和 ATPase 活性有一定抑制作用。

关键词：枸杞棉蚜；精油；成分；毒力；驱避活性；酶活性；增效剂

中图分类号：Q965.9　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0454-6296(2019)04-0453-08

Biological activities of four components of essential oils against the wolfberry aphid (*Aphis gossypii*)

CHEN Xin-Hua[1], WAN Wei[1], FENG Shu-Jun[1], XU Sheng-Li[3], YANG Jian-Jun[4], DUAN Li-Qing[2,*]
(1. Agricultural College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; 2. Forestry College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; 3. Erdos Station of Forestry Pest and Disease Control and Quarantine, Erdos, Inner Mongolia 017000, China; 4. Hanggin Banner Station of Forestry Pest and Disease Control and Quarantine, Hanggin Banner, Inner Mongolia 017400, China)

Abstract:【Aim】This study aims to evaluate the biological activities of four components of essential oils,

基金项目：国家自然科学基金项目(31360182)
作者简介：陈新华，女，1989 年 10 月生，内蒙古赤峰人，硕士研究生，研究方向为农业昆虫与害虫防治，E-mail：cxh9110@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail：duanlq2013@163.com
收稿日期 Received：2018-09-20；接受日期 Accepted：2019-01-31

namely eugenol, α-terpineol, cinnamon oil and citronella oil, to the wolfberry aphid (*Aphis gossypii*), and the effect of diethyl maleate and ethyl salicylate on the toxicity of these compounds to *A. gossypii*, so as to provide a scientific basis for more effective and green ways to prevent and control insect pests of the Chinese wolfberry, *Lycium* spp. 【Methods】 The repellent activity of the above four component compounds of essential oils to apterous adults of *A. gossypii* originated from Chinese wolfberry were tested by dichotomous choice method. The toxicity of these compounds to *A. gossypii* adults was evaluated by the method of residual film in glass tube. The *in vitro* activities of acetylcholinesterase (AChE) and adenosine triphosphatase (ATPase) of *A. gossypii* adults treated with these compounds were tested by bicochemical analysis. 【Results】 α-Terpineol (1%) showed remarkable repellency to apterous adults of *A. gossypii*, with the repellent rates of 58.1%, 58.6% and 55.7% at 1, 2 and 3 h after treatment, respectively. The repellent rate of the four compounds against *A. gossypii* adults at 3 h ranked in the descending order as α-terpineol > citronella oil > cinnamon oil > eugenol. Eugenol showed the highest toxicity to *A. gossypii* adults, with the LC_{50} value of 0.48 mL/L at 4 h post treatment, while the LC_{50} values of cinnamon oil, α-terpineol and citronella oil to *A. gossypii* adults were 1.23, 6.24 and 11.97 mL/L, respectively. The bioassay results against *A. gossypii* adults showed that the synergistic ratios of diethyl maleate to citronella oil, cinnamon oil, eugenol and α-terpineol were 2.75, 2.86, 1.78 and 1.56, respectively, while those of ethyl salicylate to citronella oil, cinnamon oil, eugenol and α-terpineol were 3.41, 2.67, 2.00 and 1.89, respectively. The toxicity ratios showed that the toxicities of the four compounds to *A. gossypii* adults had 49.9-fold difference. Eugenol mixed with diethyl maleate or ethyl salicylate showed the highest contact toxicity to *A. gossypii* adults. The four compounds tested had different effects on the activities of AChE and ATPase of *A. gossypii* adults. Eugenol had an inhibitory effect on AChE activity, but enhanced the ATPase activity at low concentrations and inhibited the ATPase activity at high concentrations. 【Conclusion】 α-Terpineol has high repellent activity against *A. gossypii* adults. The toxicities of eugenol, α-terpineol, cinnamon oil and citronella oil against *A. gossypii* adults differ much. Eugenol after mixed with diethyl maleate or ethyl salicylate shows enhanced toxicity to *A. gossypii* adults and may be a potential agent for controlling aphids. The tested four components of essential oils have certain inhibitory effects on the *in vitro* activities of AChE and ATPase of *A. gossypii* adults.

Key words: *Aphis gossypii*; essential oil; component; toxicity; repellent activity; enzymatic activity; synergist

枸杞蚜通常包括 3 种蚜虫,其中棉蚜 *Aphis gossypii* 为优势种群(张润志和张蓉, 2016)。严林等(2017)从形态和生物学方面将取食危害枸杞的棉蚜划为枸杞棉蚜生物型,称之为枸杞棉蚜。枸杞棉蚜刺吸危害枸杞嫩叶、花蕾、幼果及生长点。在我国枸杞栽培区发生面积大、危害重,造成枸杞果减产。枸杞棉蚜繁殖快、世代多,对多种化学农药产生抗性,防治成本越来越高,而且枸杞果农药残留增加,降低了其保健和药用价值,寻求替代化学农药防治枸杞害虫的途径非常重要。

精油是存在于植物不同组织中的一类重要次生代谢物质,对昆虫具有熏蒸、触杀(杨念婉和李艾莲, 2007; Sahaf *et al*., 2008; Suthisut *et al*., 2011)、驱避(Nerio *et al*., 2010; Nenaah, 2014a)、抑制取食(Jannet *et al*., 2001; Nenaah, 2014b)以及阻碍生长发育的作用(徐汉虹和赵善欢, 1995; Rao *et al*., 1999)。丁香酚(4-烯丙基-2-甲氧基苯酚)是许多精油的重要成分,有抗菌(Bennis *et al*., 2004)、驱蚊(Makhaik *et al*., 2005)、杀虫(韩群鑫和黄寿山, 2009)等作用,对 4 种存储甲虫毒杀作用强且有较高的驱避作用(Obeng-Ofori and Reichmuth, 1997),对夏型中华梨木虱 *Cacopsylla chinensis* 成虫触杀作用显著(Tian *et al*., 2015)。但丁香酚对北方蛀根虫 *Diabrotica barberi*(Ladd *et al*., 1983)、甲基丁香酚对桔小实蝇 *Bactrocera dorsalis* 有明显的吸引作用(Chuang and Hou, 2008)。α-松油醇广泛存在于植

物精油中，对白蚁具有较好的毒杀作用（Chang and Cheng, 2002），对德国小蠊 *Blattella germanica* 有触杀和熏蒸作用（Jang *et al.*, 2005）。肉桂油源于肉桂 *Cinnamomum cassia*，经肉桂油处理的小麦或麦粉对玉米象 *Sitophilus zeamais*、谷蠹 *Rhizopertha dominica* 和赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 的种群繁殖有抑制作用（徐汉虹和赵善欢，1994）。香茅油源于香茅 *Cymbopogon citratus*，对玉米象 *S. zeamais* 有较强的触杀活性（肖洪美和屠康，2008），也是蚊香的主要成分（Sakulku *et al.*, 2009）。

丁香酚、肉桂油、α-松油醇和香茅油这 4 种精油成分对枸杞棉蚜的生物活性作用尚不清楚，马来酸二乙酯和水杨酸乙酯通常作为农药的增效剂，它们是否对所选精油有增效作用，也未见报道。为寻求绿色环保的枸杞害虫防治途径，本研究测定了这 4 种精油成分对枸杞棉蚜的驱避和毒杀作用，并通过测定这些化合物对乙酰胆碱酯酶（acetylcholinesterase, AChE）和三磷酸腺苷酶（adenosine triphosphatase, ATPase）活性的影响，探讨其杀虫机理。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

枸杞棉蚜 *Aphis gossypii* 采自内蒙古农业大学科技园区未经任何农药处理的枸杞。

1.2　试剂

丁香酚（eugenol）（纯度（99%）、马来酸二乙酯（diethyl maleat）（纯度 >96%）、水杨酸乙酯（纯度 > 99%），阿拉丁生化科技股份有限公司。肉桂油（cinnamon oil）、香茅油（citronella oil），广州大漠化工有限公司。α-松油醇（α-terpineol）（纯度 > 98%），购于成都麦卡希化工有限公司。丙酮、考马斯亮蓝 G-250、牛血清蛋白、乙醇、磷酸、蒸馏水、乙二胺四乙酸二钠、蔗糖、氯化钠、ATPase 测试盒（南京建成生物工程研究所）。

1.3　精油对枸杞棉蚜成蚜的驱避作用

参考 da Camara 等（2015）的方法，在培养皿（直径 12 cm）底部铺滤纸，中央放一个直径为 3 cm 的小培养皿，底部铺滤纸，在滤纸上再铺绿色防水纸。在距离小培养皿外侧 4 cm 处各放叶片，之间用滤纸条搭桥（4 cm × 1 cm）。一侧滤纸条滴加 10 μL 1% 的相应待测精油成分的甲醇溶液（处理），另一侧滴加等量甲醇（精油溶剂作对照）。小培养皿内接入 30 头无翅枸杞棉蚜成蚜，分别在 1，2 和 3 h 记录通过滤纸条桥达到两侧叶片上的蚜虫数，并用下式计算精油对枸杞棉蚜的驱避率：

驱避率（%）=（对照枸杞棉蚜数 − 处理枸杞棉蚜数）/（对照枸杞棉蚜数 + 处理枸杞棉蚜数）× 100%。

1.4　生物测定

将 4 种精油成分用丙酮稀释成经预实验确定的 5 个浓度，丙酮为对照。将马来酸二乙酯和水杨酸乙酯用丙酮稀释为 0.02% 的浓度，分别与 4 种精油成分混合，混合液中精油成分的浓度与单一精油成分的浓度相同。用玻璃管药膜法（鲁艳辉等，2009）进行生物测定，分别测定单一精油及混合液对枸杞棉蚜的触杀作用。每管接入发育一致的无翅成蚜 30 头，室温下 4 h 后观察记录死亡数，以毛笔拨动虫体，不动者记为死亡。每个浓度 3 个重复。用 POLO 软件计算不同处理对枸杞棉蚜成蚜的致死中浓度（LC_{50}），并按下式计算单独精油与增效剂混合液的增效比：

增效比（SR）= LC_{50}（精油）/ LC_{50}（精油 + 增效剂）。

增效比大于 1 说明有增效作用，等于 1 无作用，小于 1 有拮抗作用。

1.5　酶液的制备及酶活性的测定

1.5.1　AChE 酶液的制备及精油对 AChE 活性的影响：枸杞棉蚜 AChE 酶液制备参见高希武（1988）的方法，将 200 头未经任何处理的健康成蚜置于玻璃匀浆器中，加入预冷的 0.1 mol/L pH 7.6 的磷酸缓冲液，冰浴匀浆，匀浆液于 12 000 r/min 4℃ 下离心 15 min，取上清液作为酶源，低温保存待用。

取酶液 0.1 mL，加相应浓度的精油成分 0.02 mL，混合均匀放置 5 min，后加 0.1 mL ASCh，30℃ 水浴保温 15 min 后，加入 DTNB 显色剂显色并终止反应，于 412 nm 下测定 OD 值。对照管加丙酮。每个浓度处理重复 3 次（每重复取 200 头蚜虫提取酶液）。按下式计算精油成分对 AChE 活性的抑制率：

$$抑制率(\%) = \frac{对照\ OD\ 值 - 处理\ OD\ 值}{对照\ OD\ 值} \times 100\%。$$

1.5.2　ATPase 酶液的制备及酶活性的测定：枸杞棉蚜 ATPase 酶液制备参见张丛等（2015）的方法。将 200 头未经任何处理的健康成蚜置于玻璃匀浆器中，加 2 mL Tris-HCl 缓冲液，冰浴下匀浆。匀浆液于 4℃ 3 000 g 下离心 10 min，取上清液于 10 000 g 离心 30 min，弃去上清液，沉淀用上述缓冲液溶解后作为酶源。按 ATPase 测试盒（南京建成生物工程研究所）说明测定 Na^+-K^+-ATPase 和 Ca^{2+}-Mg^{2+}-

ATPase 活性。ATPase 活力以每小时每毫克组织蛋白中酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为一个活力单位,计算方法按试剂盒所示。其中,蚜虫蛋白质含量的测定参照 Bradford 的考马斯亮蓝 G-250 法(Bradford, 1976)。

用丙酮将供试药剂稀释成所需浓度,反应体系中加酶液和药剂,测定药剂对枸杞棉蚜 ATPase 活性的影响。每个浓度处理重复 3 次(每重复取 200 头蚜虫提取酶液)。按下式计算精油成分对 ATPase 活性的抑制率:

抑制率(%) =

$$\frac{\text{对照 ATPase 活力} - \text{药剂处理 ATPase 活力}}{\text{对照 ATPase 活力}} \times 100\%。$$

1.6 数据分析

数据采用 EXCE 和 SPSS 做分析,POLO 软件计算致死中浓度(LC_{50})值。

2 结果

2.1 4 种精油成分对枸杞棉蚜无翅成蚜的驱避作用

α-松油醇对枸杞棉蚜无翅成蚜的驱避作用明显,1, 2 和 3 h 的驱避率分别为 58.1%, 58.6% 和 55.7%,均超出了 50%(表 1)。3 h 时驱避率由大到小为 α-松油醇 > 香茅油 > 肉桂油 > 丁香酚。随着时间的延长,香茅油对枸杞棉蚜无翅成蚜的驱避作用增加,3 h 时达到 44.6%,并显著高于肉桂油和丁香酚的驱避率,肉桂油和丁香酚对枸杞棉蚜的驱避作用较弱。

表 1 4 种精油成分对枸杞棉蚜无翅成蚜的驱避作用

Table 1 Repellent effect of four components of essential oils against apterous adults of the wolfberry aphid (*Aphis gossypii*)

化合物 Compounds	驱避率 Repellent rate (%)		
	1 h	2 h	3 h
α-松油醇 α-Terpineol	58.1 ± 6.5 a	58.6 ± 6.2 a	55.7 ± 5.9 a
香茅油 Citronella oil	28.3 ± 9.8 b	40.2 ± 9.8 ab	44.6 ± 9.0 a
肉桂油 Cinnamon oil	43.1 ± 9.1 ab	30.7 ± 9.7 b	32.1 ± 8.9 b
丁香酚 Eugenol	30.8 ± 8.3 b	27.7 ± 9.1 b	28.6 ± 11.5 b

化合物浓度为 1%,表中数值为平均值 ± 标准误,同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$, ANOVA, Duncan 氏检验)。The compound concentration was 1%. Data in the table are mean ± *SE*, and different letters following the data within each column indicate significant difference ($P < 0.05$, ANOVA and Duncan's test).

2.2 4 种精油成分及其与马来酸二乙酯或水杨酸乙酯的混合液对枸杞棉蚜的触杀毒力

采用玻璃管药膜法测定化合物对枸杞棉蚜的触杀毒力,结果显示处理 4 h 时丁香酚对枸杞棉蚜成蚜的致死中浓度(LC_{50})最小,为 0.48 mL/L,表明对枸杞棉蚜的毒力高;肉桂油对枸杞棉蚜的 LC_{50} 值为 1.23 mL/L、α-松油醇为 6.24 mL/L、香茅油 LC_{50} 值为 11.97 mL/L,毒力从高到低依次为丁香酚 > 肉桂油 > α-松油醇 > 香茅油(表 2)。从增效比来看,马来酸二乙酯和水杨酸乙酯对 4 种精油均有增效作用,增效比均大于 1,其中马来酸二乙酯对肉桂油的增效比为 2.86,对香茅油为 2.75,对丁香酚为 1.78,对 α-松油醇为 1.56。水杨酸乙酯对香茅油增效比为 3.41,对肉桂油为 2.66,对丁香酚为 2.00,对 α-松油醇为 1.89。马来酸二乙酯对肉桂油的增效作用最大,水杨酸乙酯对香茅油的增效作用最大。从 LC_{50} 值来看,丁香酚与水杨酸乙酯混合液对枸杞棉蚜的触杀 LC_{50} 值为 0.24 mL/L,与马来酸二乙酯混合液为 LC_{50} 值为 0.27 mL/L,二者 95% 置信区间重叠度大于 50%,二者无差异(Ebling *et al*., 2004),而且毒力比分别为 1.0 和 1.1,几乎相同。丁香酚等 4 种精油成分对枸杞棉蚜的毒力比相差很大,丁香酚和水杨酸乙酯混合液对枸杞棉蚜的毒力是香茅油的 49.9 倍,是 α-松油醇的 26.0 倍(表 2),香茅油和 α-松油醇对枸杞棉蚜的触杀作用较低。

斜率值的大小与枸杞棉蚜个体间对所测得化合物的敏感性差异有关,斜率越大,个体间敏感性差异越小。丁香酚及丁香酚与马来酸二乙酯、水杨酸乙酯混合液的斜率值大,说明枸杞棉蚜个体对它们的敏感性差异小,而且马来酸二乙酯、水杨酸乙酯进一步降低了枸杞棉蚜个体敏感性差异。这种作用对 α-松油醇和香茅油及肉桂油也比较明显。

2.3 4 种精油成分对枸杞棉蚜成蚜 AChE 及 ATPase 活性的影响

4 种精油成分对枸杞棉蚜成蚜 AChE 活性的抑制作用呈剂量效应关系,随着浓度的增加,抑制作用增大(图 1)。丁香酚对枸杞棉蚜成蚜 AChE 活性的抑制作用明显,与浓度呈直线增加趋势。

4 种精油成分对枸杞棉蚜成蚜 Na^+-K^+-ATPase 和 Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase 活性的作用情况比较复杂(图 2),丁香酚在浓度为 0.2 mL/L 时对 Na^+-K^+-ATPase 和 Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase 活性的抑制率均为负值,其他较高浓度下为正值,说明低浓度时对 ATPase 活性有促进作用,高浓度时为抑制作用,而且抑制率随浓度升高而增大。在同一浓度下,香茅油对枸杞棉蚜成蚜 Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase 活性的抑制作用高于对 Na^+-K^+-ATPase。在浓度为 2 mL/L 时,

表 2 4 种精油成分及其与马来酸二乙酯或水杨酸乙酯混合液对枸杞棉蚜成蚜的触杀毒力(玻璃管药膜法)

Table 2 Contact toxicities of four components of essential oils and their mixture with diethyl maleate or ethyl salicylate to adults of the wolfberry aphid (*Aphis gossypii*) using the method of residual film in glass tube

化合物 Compounds	LC_{50}(95% 置信区间) LC_{50}(95% confidence limit)(mL/L)	斜率 Slope	卡方/自由度 χ^2/df	增效比 Synergetic ratio (SR)	毒力比 Toxicity ratio
丁香酚 Eugenol	0.48 (0.43 – 0.54)	3.77 ± 0.32	18.11/13	1.00	2.0
丁香酚 Eugenol + A	0.27 (0.24 – 0.29)	4.29 ± 0.39	13.94/13	1.78	1.1
丁香酚 Eugenol + B	0.24 (0.21 – 0.27)	3.89 ± 0.37	7.00/13	2.00	1.0
肉桂油 Cinnamon oil	1.23 (1.07 – 1.40)	2.79 ± 0.24	6.68/13	1.00	5.1
肉桂油 Cinnamon oil + A	0.43 (0.39 – 0.47)	3.53 ± 0.31	5.52/13	2.86	1.8
肉桂油 Cinnamon oil + B	0.46 (0.41 – 0.51)	3.08 ± 0.31	4.62/13	2.67	1.9
α-松油醇 α-Terpineol	6.24 (5.60 – 6.97)	2.87 ± 0.32	1.10/13	1.00	26.0
α-松油醇 α-Terpineol + A	3.99 (3.54 – 4.43)	3.49 ± 0.33	3.39/13	1.56	16.6
α-松油醇 α-Terpineol + B	3.30 (2.89 – 3.68)	3.47 ± 0.32	7.94/13	1.89	13.8
香茅油 Citronella oil	11.97 (9.86 – 16.40)	2.21 ± 0.33	4.20/13	1.00	49.9
香茅油 Citronella oil + A	4.36 (3.77 – 4.88)	3.56 ± 0.40	3.72/13	2.75	18.2
香茅油 Citronella oil + B	3.51 (3.10 – 3.90)	3.57 ± 0.33	8.33/13	3.41	14.6

A：马来酸二乙酯 Diethyl maleate；B：水杨酸乙酯 Ethyl salicylate. 增效比(SR) = LC_{50}(化合物 + A 或 B)/LC_{50}(化合物)；毒力比是以最小致死中浓度(LC_{50})下的毒力为 1 而计算的数值。Synergetic ratio (SR) = LC_{50}(compound + A or B)/LC_{50}(compound). Toxicity ratios are calculated based on the toxicity in the treatment with the smallest LC_{50} of compound (setting as one).

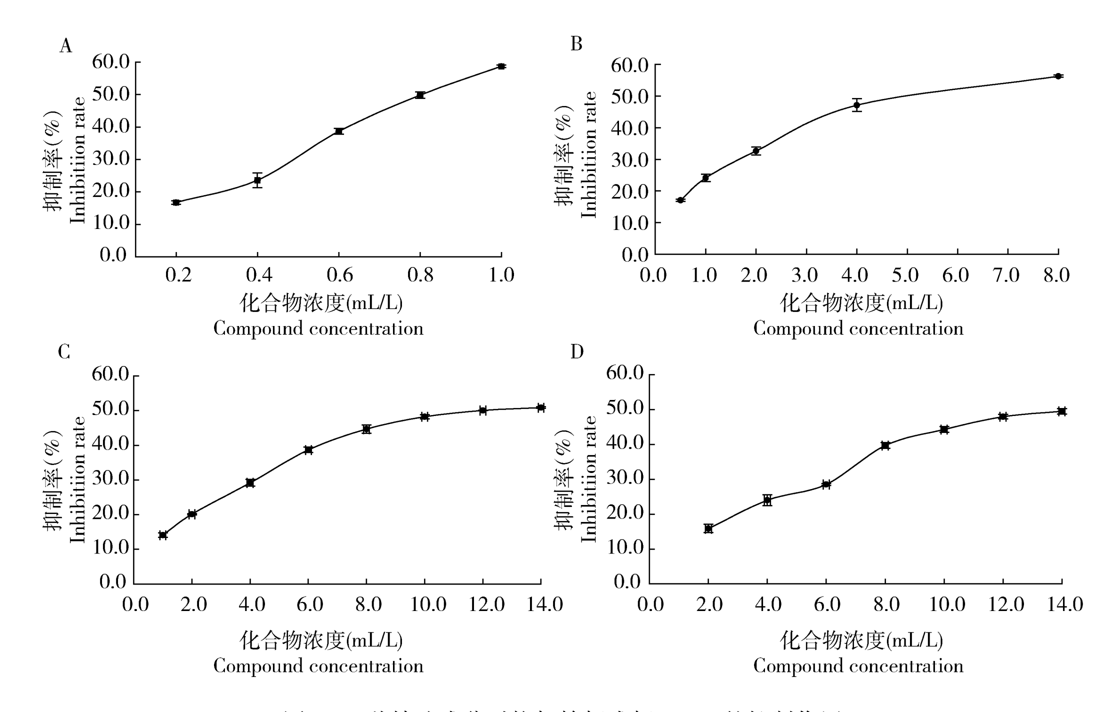


图 1 4 种精油成分对枸杞棉蚜成蚜 AChE 的抑制作用

Fig. 1 Inhibitory effects of four components of essential oils on the AChE activity in adults of the wolfberry aphid (*Aphis gossypii*)

A：丁香酚 Eugenol；B：肉桂油 Cinnamon oil；C：α-松油醇 α-Terpineol；D：香茅油 Citronella oil.

对 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活性表现为促进作用，随着浓度的升高，转化为抑制作用，抑制率与浓度成正相关。α-松油醇和肉桂油对枸杞棉蚜成蚜 Na^{+}-K^{+}-ATPase 和 Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase 活性均有抑制作用。

3 结论与讨论

丁香酚对枸杞棉蚜成蚜的触杀作用强，LC_{50} 值为0.48 mL/L(表 2)，与其对赤拟谷盗 *Tribolium*

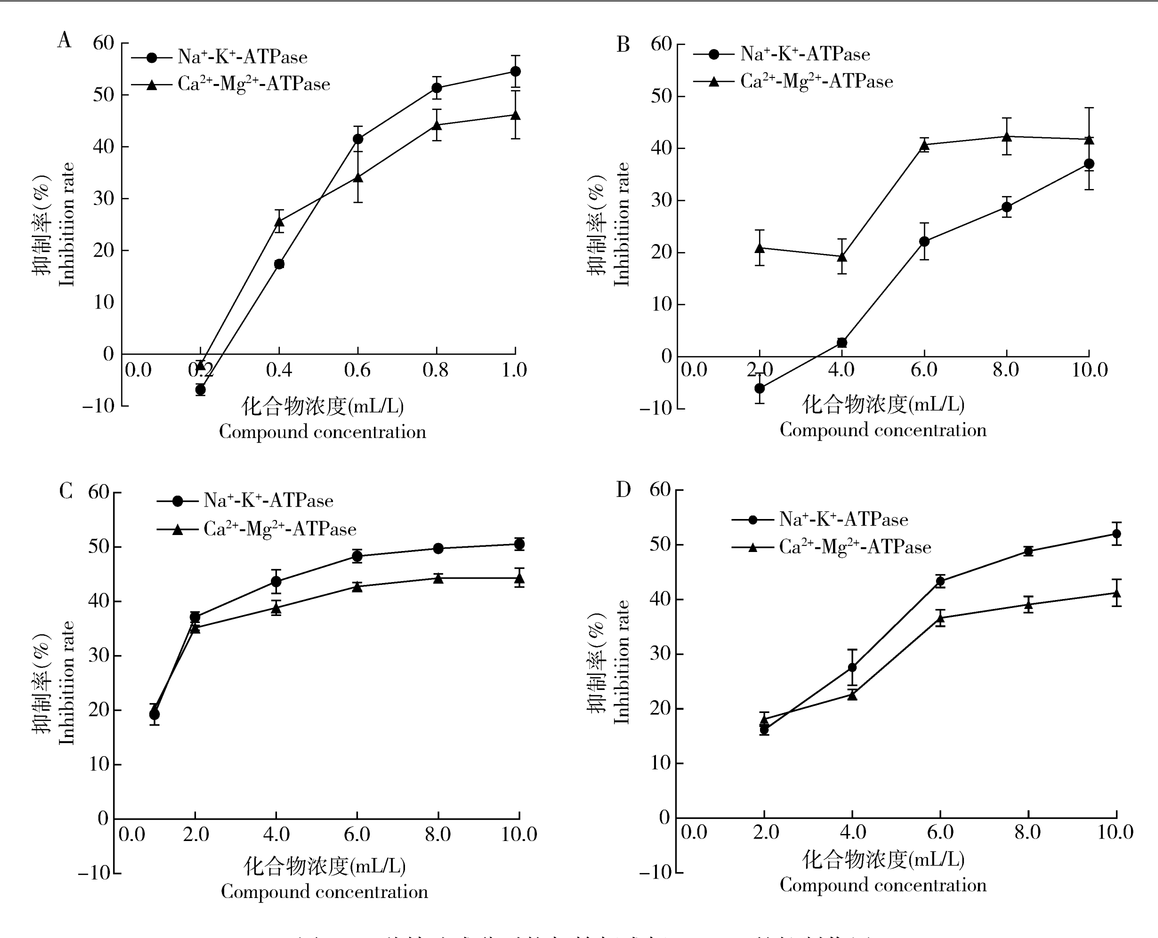


图 2 4 种精油成分对枸杞棉蚜成蚜 ATPase 的抑制作用

Fig. 2 Inhibitory effect of four components of essential oils on the ATPase activity in adults of the wolfberry aphid (*Aphis gossypii*)

A：丁香酚 Eugenol；B：香茅油 Citronella oil；C：肉桂油 Cinnamon oil；D：α-松油醇 α-Terpineol.

castaneum 幼虫或成虫相比差别很大,其 LC_{50} 值分别为 218.99 和 363.07 mL/L(韩群鑫和黄寿山, 2009),可见不同昆虫对同一种药物的敏感性不同。马来酸二乙酯、水杨酸乙酯显著提高了丁香酚对枸杞棉蚜成蚜的毒力,与单独丁香酚相比,其对枸杞棉蚜成蚜的毒力分别提高 1.80 和 1.98 倍;从对枸杞棉蚜成蚜的致死中浓度来看, 肉桂油、α-松油醇、香茅油对枸杞棉蚜的触杀作用较丁香酚低,与马来酸二乙酯、水杨酸乙酯混合后毒力没有明显高于丁香酚(表 2),所以,丁香酚及其与马来酸二乙酯、水杨酸乙酯的混合物对枸杞棉蚜成蚜的触杀毒力高,可进一步开发利用。

α-松油醇对枸杞棉蚜成蚜有明显的驱避作用,选择性驱避率为 55.7%(表 1);Yatagai 等(2002)研究发现日本柳杉皮精油对蛀皮虫 *Sernanslus japonicus* 具有驱避作用,其主要成分为 α-松油醇,α-松油醇也是 *Baccharis salicifolia* 精油的主要成分,对赤拟谷盗驱避作用明显(García *et al*., 2005)。柑橘精油对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 有明显的驱避作用,已作为阻隔剂用于温室内阻隔二斑叶螨的扩散(da Camara *et al*., 2015)。基于 α-松油醇对枸杞棉蚜良好的驱避作用及丁香酚的高触杀作用,如何协调利用二者防治枸杞棉蚜仍需进一步研究。

乙酰胆碱酯酶(AChE)是昆虫神经突触传导酶,AChE 的活性部位被抑制,导致突触后膜的乙酰胆碱受体兴奋失常,神经传导不正常,致使昆虫死亡(高希武, 1988; 李飞等, 2003)。三磷酸腺苷酶(ATPase)活性被抑制,会影响细胞膜上离子通道的开启与关闭,使膜两侧离子平衡失常,导致神经系统功能紊乱,使昆虫死亡(周琳等, 2015)。蒿属植物 *Artemisia judaice* 精油对存储害虫米象的 AChE 活性有明显的抑制作用,而 *Callistemon viminals* 和 *Origanum vulgare* 精油对 ATPase 的活性抑制明显(Samir *et al*., 2016)。α-松油醇对黑胸散白蚁工蚁的 Na^+-K^+-ATPase 活性的抑制作用随处理时间的延长而表现出来(谢永坚, 2013)。丁香酚对枸杞棉蚜离体 AChE 活力的影响较明显,但对 ATPase 活性表现为低浓度促进,高浓度抑制;肉桂油和 α-松油

醇对 AChE 活性的抑制作用较对两种 ATPase 活性的抑制作用强；α-松油醇对 Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase 活性的作用较小，对 Na^{+}-K^{+}-ATPase 活性作用大（图 1 和 2），这与对黑胸散白蚁工蚁（谢永坚，2013）情况一致。可推测丁香酚等 4 种精油成分可能作用于蚜虫的神经系统，影响蚜虫体内神经信号传导，从而引起蚜虫中毒死亡。采用离体酶活性测定虽然可证明丁香酚等 4 种精油成分对枸杞棉蚜神经系统有作用，但要确定这些化合物对枸杞棉蚜的具体作用靶标还需进行更深入的研究。

对枸杞棉蚜成蚜的生物测定结果（表 2）表明，马来酸二乙酯和水杨酸乙酯对检测的 4 种精油成分都有明显的增效作用，特别是马来酸二乙酯对肉桂油、水杨酸乙酯对香茅油的增效作用最大，毒力提高 3 倍左右。从毒力回归斜率值来看，马来酸二乙酯、水杨酸乙酯增加了 4 种精油成分对枸杞棉蚜的毒力回归线的斜率值，即降低了枸杞棉蚜个体间对所测精油成分的敏感差异性，但对马来酸二乙酯、水杨酸乙酯的增效原理还需进一步研究，明确其是否增加昆虫对药剂的敏感性，是否改变原药功能等。通过本研究可以明确丁香酚与马来酸二乙酯或水杨酸乙酯的混合物可为高效低毒的精油防治枸杞害虫开辟新途径，具有较好驱避和触杀作用的 α-松油醇是否可与丁香酚混合使用，正在研制中。

参考文献（References）

Bennis S, Cham F, Chami N, Bouchikhi T, Remmal A, 2004. Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Lett. Appl. Microb.*, 38: 454－458.

Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.*, 72(1/2): 248－254.

Chang ST, Cheng SS, 2002. Antitermitic activity of leaf essential oils and components from *Cinnamomum osmophleum*. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 1389－1392.

Chuang YY, Hou RF, 2008. Effectiveness of attract-and-kill systems using methyl eugenol incorporated with neonicotinoid insecticides against the oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, 101(2): 352－359.

da Camara CAG, Akhtar Y, Isman MB, Seffrin RC, Born FS, 2015. Repellent activity of essential oils from two species of *Citrus* against *Tetranychus urticae* in the laboratory and greenhouse. *Crop Prot.*, 74: 110－115.

Ebling PM, Otvos IS, Conder N, 2004. Comparative activity of three isolates of LdMNPV against two strains of *Lymantria dispar*. *Can. Entomol.*, 136(5): 737－747.

Gao XW, 1988. Improved Ellman method for the determination of organophosphate and carbamate insecticides against the activity of AChE. *Pesticides*, 27(1): 50－58. [高希武, 1988. 改进的 Ellman 法测定有机磷酸酯和氨基甲酸酯杀虫剂抑制 AChE 的能力. 农药, 27(1): 50－58]

García M, Donadel OJ, Ardanaz CE, Tonn CE, Sosa ME, 2005. Toxic and repellent effects of *Baccharis salicifolia* essential oil on *Tribolium castaneum*. *Pest Manag. Sci.*, 61: 612－618.

Han QX, Huang SS, 2009. The bioactivity of eugenol against the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *J. Chongqing Norm. Univ. (Nat. Sci.)*, 26(3): 16－19. [韩群鑫, 黄寿山, 2009. 丁香酚对赤拟谷盗的生物活性. 重庆师范大学学报(自然科学版), 26(3): 16－19]

Jang YS, Yang YC, Choi DS, Ahn YJ, 2005. Vapor phase toxicity of marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *J. Agric. Food Chem.*, 53(20): 7892－7898.

Jannet HB, H-Skhiri F, Mighri Z, Simmonds MSJ, Blaney WM, 2001. Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera littoralis* larvae. *Industr. Crops Prod.*, 14(3): 213－222.

Ladd TL, Stinner BR, Krueger HR, 1983. Eugenol, a new attractant for the northern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.*, 76: 1049－1051.

Li F, Han ZJ, Tang B, 2003. Insensitivity of acetylcholinesterase and increased activity of esterase in the resistant cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover. *Acta Entomol. Sin.*, 46(5): 578－583. [李飞, 韩召军, 唐波, 2003. 抗性品系棉蚜乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的变异. 昆虫学报, 46(5): 578－583]

Lu YH, Yang T, Gao XW, 2009. Establishment of baseline susceptibility data to various insecticides for aphids *Rhopalosiphum padi* (Linnaeus) and *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae) by the method of residual film in glass tube. *Acta Entomol. Sin.*, 52(1): 52－58. [鲁艳辉, 杨婷, 高希武, 2009. 禾谷缢管蚜和麦长管蚜玻璃管药膜法敏感毒力基线的建立. 昆虫学报, 52(1): 52－58]

Makhaik M, Naik SN, Tewary DK, 2005. Evaluation of anti-mosquito properties of essential oils. *J. Scient. Industr. Res.*, 64(2): 129－133.

Nenaah GE, 2014a. Chemical composition, insecticidal and repellence activities of essential oils of three *Achillea* species against the Khapra beetle (Coleoptera: Dermestidae). *J. Pest Sci.*, 87: 273－283.

Nenaah GE, 2014b. Toxic and antifeedant activities of prenylated flavonoids isolated from *Tephrosia apollinea* L. against three major coleopteran pests of stored grains with reference to their structure-activity relationship. *Nat. Prod. Res.*, 28(24): 2245－2252.

Nerio LS, Olivero-Verbel J, Stashenko E, 2010. Repellent activity of essential oils: a review. *Biores. Technol.*, 101(1): 372－378.

Obeng-Ofori D, Reichmuth C, 1997. Bioactivity of eugenol, a major component of essential oil of *Ocimum suave* (Wild.) against four species stored-product Coleoptera. *Int. J. Pest Manag.*, 43(1): 89－94.

Rao PJ, Kumar KM, Singh S, Subrahmanyam B, 1999. Effect of

Artemisia annua oil on development and reproduction of *Dysdercus koenigii* F. (Hem., Pyrrhocoridae). *J. Appl. Entomol.*, 123: 315-318.

Sahaf BZ, Moharramipour S, Meshkatalsadat MH, 2008. Fumigant toxicity of essential oil from *Vitex pseudonegundo* against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* (L.). *J. Asia-Pacific Entomol.*, 11: 175-179.

Sakulku U, Nuchuchua O, Uawongyart N, 2009. Characterization and mosquito repellent activity of citronella oil nanoemulsion. *Int. J. Pharmac*, 372(1/2): 105-111.

Samir AMA, Magdy IEM, Shawir MS, Hamdy KAT, 2016. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *J. Pest Sci.*, 89: 219-229.

Suthisut D, Fields PG, Chandrapatya A, 2011. Contact toxicity, feeding reduction, and repellency of essential oils from three plants from the ginger family (Zingiberaceae) and their major components against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium castaneum*. *J. Econ. Entomol.*, 104(4): 1445-1454.

Tian BL, Liu QZ, Liu ZL, Li P, Wang JW, 2015. Insecticidal potential of clove essential oil and its constituents on *Cacopsylla chinensis* (Hemiptera: Psyllidae) in laboratory and field. *J. Econ. Entomol.*, 108(3): 957-961.

Xiao HM, Tu K, 2008. Effects of *Cymbopogon winterianus* oil on two stored grain insect adults. *Grain Stor.*, 37(3): 8-11. [肖洪美, 屠康, 2008. 香茅精油对两种主要储粮害虫的控制作用. 粮食储藏, 37(3): 8-11]

Xie YJ, 2013. Studies on Chemical Composition and Insecticidal Activity against *Reticulitermes chinensis* Snyder of *Cryptomeria fortunei* Essential Oil. PhD Dissertation, Huazhong Agricultural University, Wuhan. 1-166. [谢永坚, 2013. 柳杉精油化学成分及其对黑胸白蚁的毒杀活性研究. 武汉: 华中农业大学博士学位论文. 1-166]

Xu HH, Zhao SH, 1994. Insecticidal activity and effective components of cinnamon oil. *J. South China Agric. Univ.*, 15(1): 27-33. [徐汉虹, 赵善欢, 1994. 肉桂油的杀虫作用和有效成分分析. 华南农业大学学报, 15(1): 27-33]

Xu HH, Zhao SH, 1995. The repellent effect and egg kill of five kinds of essential oils on stored grain pests. *J. Chin. Cer. Oils Assoc.*, 10(1): 1-5. [徐汉虹, 赵善欢, 1995. 五种精油对储粮害虫的忌避作用和杀卵作用研究. 中国粮油学报, 10(1): 1-5]

Yan L, Guo R, Li YJ, Li LL, Wei QR, Han YB, Liu MY, Ma XL, 2017. Morphology and bionomics of *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) on Chinese wolfberry (*Lycium barbarum*). *Acta Entomol. Sin.*, 60(6): 666-680. [严林, 郭蕊, 李亚娟, 李琳琳, 卫琼茹, 韩云帮, 刘梦瑶, 马秀莲, 2017. 枸杞棉蚜形态和生物学特性研究. 昆虫学报, 60(6): 666-680]

Yang NW, Li AL, 2007. Advances in the research of plant essential oils for pest control. *Plant Prot.*, 33(6): 16-21. [杨念婉, 李艾莲, 2007. 植物精油应用于害虫防治研究进展. 植物保护, 33(6): 16-21]

Yatagai M, Nishimoto M, Ohira KHT, Shibata A, 2002. Termiticidal activity of wood vinegar, its components and their homologues. *J. Wood Sci.*, 48(4): 338-342.

Zhang C, Zhang HZ, Chang J, Li HP, 2015. Toxicity and the effects of four pyrethroid insecticides on the activity of ATPase and GSTs in *Aphis* sp. *Chin. J. Pest Sci.*, 17(2): 235-240. [张丛, 张海珠, 常静, 李海平, 2015. 四种拟除虫菊酯类杀虫剂对枸杞蚜虫的毒力及对三磷酸腺苷酶和谷胱甘肽 S-转移酶活性的影响. 农药学学报, 17(2): 235-240]

Zhang RZ, Zhang R, 2016. Aphids infested *Lycium chinense* Miller are *Aphis gossypii* Glover, *Myzus persicae* (Sulzer) and *A. craccivora* Koch. *Chin. J. Appl. Entomol.*, 53(1): 218-222. [张润志, 张蓉, 2016. 宁夏危害枸杞的蚜虫种类为棉蚜, 桃蚜和豆蚜. 应用昆虫学报, 53(1): 218-222]

Zhou L, Li JL, Liu XY, Ma ZQ, Feng JT, Zhang X, 2015. Effects of total alkaloids from *Tripterygium wilfordii* (Celastraceae) on the activities of neural enzymes and contents of neurotransmitters in larval *Mythimna separata* (Lepidoptera: Noctuidae). *Acta Entomol. Sin.*, 58(8): 856-863. [周琳, 李俊领, 刘向阳, 马志卿, 冯俊涛, 张兴, 2015. 雷公藤总生物碱对粘虫幼虫神经系统酶活性及神经递质含量的影响. 昆虫学报, 58(8): 856-863]

(责任编辑: 赵利辉)